

⑬ 日本国特許庁 (JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭55—136955

⑨ Int. Cl.<sup>3</sup>  
G 01 N 33/50

識別記号

庁内整理番号  
6514—2G

⑭ 公開 昭和55年(1980)10月25日

発明の数 1  
審査請求 未請求

(全 4 頁)

⑮ 白血球の捕捉・採取用フィルター

富士市鮫島2番地の1旭化成工業株式会社内

⑯ 特 願 昭54—44270

⑰ 発 明 者 竹中良則

⑱ 出 願 昭54(1979)4月13日

富士市鮫島2番地の1旭化成工業株式会社内

⑲ 発 明 者 黒田徹

富士市鮫島2番地の1旭化成工業株式会社内

⑳ 出 願 人 旭化成工業株式会社

大阪市北区堂島浜1丁目2番6号

㉑ 発 明 者 津田信明

BEST AVAILABLE COPY

明 細 書

1. 発明の名称

白血球の捕捉・採取用フィルター

2. 特許請求の範囲

1. 平均孔径が5から20ミクロンメートル (mm) の連続細孔を有するスポンジ状フィルターを主要部とする白血球の捕捉・採取用フィルター

2. 多孔質フィルターの厚みが10mm以上である特許請求の範囲第1項記載の白血球の捕捉・採取用フィルター

3. 発明の詳細な説明

本発明は白血球の捕捉・採取用フィルターに関する。

更に詳しく述べると、血液、体液またはこれらを処理して得られる血球浮遊液から白血球を簡単な操作で短時間に捕捉・採取できるフィルターに関するものである。

近年、血液学、免疫学の進歩に伴ない、従来の全血輸血に代わる血液の成分輸血、白血球の機能検査、白血球の表面抗原の検査等を行ない各種疾

患の治療、診断等に応用することが各地の病院、研究機関で行なわれている。

この様な目的に使用可能な従来の白血球の捕捉、採取技術としては、赤血球凝集剤を用いる方法、遠心分離法、血球の繊維への粘着力を利用する方法等がある。

更に詳しく述べると、赤血球凝集剤を用いる方法は血液にデキストランやヒドロキシエチルスターチなどの赤血球凝集剤を加え、一定時間放置後に白血球に富んだ上清を得る方法であり、遠心分離方法は血液を遠心分離して白血球に富むペフアイコートを採取する方法、比重1.077の液体に血液を重ね、遠心分離を行ないリンパ球層を回収する密度勾配遠心分離方法等である。繊維への粘着力を利用する既知の方法は繊維に単球、顆粒球を付着させ、生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水等により付着した血球を回収する方法、凝集剤や遠心分離の使用により白血球に富む分画を得、その後この白血球分画をナイロン、ガラスウール等の繊維を詰めたカラムに入れ、37℃に保ちし

30分位放置した後リンパ球を回収する方法である。

しかし、これらの方法には次の様な欠点があった。すなわち、赤血球凝集剤を用いる方法は比較的簡便な操作により白血球の浮遊液が得られるが、この浮遊液には、白血球の数倍の赤血球、数十倍の血小板及び多量の血漿と赤血球凝集剤が含まれており、輸血用にはもちろんのこと、検査用としても、そのまま白血球浮遊液として使えるものではなかった。実験に使用できる状態の白血球浮遊液にするためには、数回の沈降操作や混入不純物除去のための様々な操作が必要であり、結局、多大な時間と手間がかかってしまう。遠心分離法は、輸血用に必要な血液量を処理するためには大型の遠心分離機が必要であり、検査用程度の少量の血液を処理するだけでも、かなり高価な遠心分離機が必要となる。また、得られた白血球中の不純物を除去するためには更に数回の遠心分離操作を必要とし、これらの操作を行なう際、一部の白血球は破壊され、白血球の回収率が悪くなってしまう。更に、

-3-

である。本発明で言う多孔質フィルターとは、第1図の様に細孔1がランダムに開いていて、その細孔が多孔質構造物2の表面から他の表面まで連続している物を言い、多孔質と言っても必ずしもフレキシブルである必要は無い。平均孔径とは、多孔質フィルターを任意に切断し断面全体に分散している細孔の各々について直径を測定して直径と細孔の数との関係を図べたときに、最も数の多い細孔の円に換算した直径を指すものである。すなわち、多孔質フィルターの任意の切断面に分散する細孔はいろいろな形で、その直径もさまざまであるが、個々の細孔をその細孔の断面積と同じ面積の円に換算し、その直径を横軸にとり、横軸に細孔の数をとってグラフを描くと一般に正規分布に近い曲線となる。このとき細孔はランダムに1000個以上散れるのが好ましい。そして、その曲線のピークに当る直径が本発明で言う平均孔径である。従って、~~スポンジ状~~多孔質フィルターに様々な粒子を通した時に多孔質フィルターの平均孔径以上の直径の粒子は通過し難いという性質を指す

-5-

特開昭55-136955(2)

非常に煩雑な操作である為、無菌的な操作が難しく、熟練者でも多大な労力と時間を必要とした。組織への血球の粘着力を利用する従来の方法は、一般にリンパ球の組織への粘着能が弱い為白血球全体を一度に分離することはできなかった。

そこで我々は、血液から簡単な操作で、純度、収率良く白血球を捕捉、採取することを目的に鋭意研究した結果、平均孔径が5から20 $\mu$ mの多孔質フィルターが白血球を良く捕捉し、捕捉された白血球の回収も簡単な操作で行なえることを見出し本発明を得るに至った。

すなわち本発明は、平均孔径が5から20 $\mu$ mの連続細孔を有する多孔質フィルターを主要部とする白血球の捕捉、採取用フィルターである。

ここで、多孔質フィルターの材質は血球にダメージを与えにくいものであれば何でも使えるが、合成ゴム、合成樹脂の発泡体等が孔性を調節し易く使い易い。

以下図面を用いて本発明を説明する。第1図は、本発明に用いる多孔質フィルターの断面の模式図

-4-

ものであつて、これ以上の直径の粒子は絶対に通過しないというものではない。

また、~~スポンジ状~~多孔質フィルターは、多孔質構造物に比べて細孔の空隙率が高い事が望ましく、細孔の孔径分布も狭い方が望ましい。

以下、例を上げて本発明白血球の捕捉・採取用フィルターを説明する。第2図は本発明白血球の捕捉、採取用フィルターの一例を示す模式図であり、第3図は本発明白血球の捕捉・採取用フィルターを使用する際の装置の一例を示す模式図である。

本発明白血球の捕捉・採取用フィルターは例えば第2図の様に入口3、出口4を持つ容器5内に多孔質フィルター6が収容されて構成される。このフィルターを実際に使用する際には例えば第3図の様な実験装置が用いられる。血液から白血球を採取する実験を例にとつて説明すると、先ず血液7はポンプ8により白血球の捕捉・採取用のフィルター9に送られ、ここで白血球が捕捉され、赤血球、血漿等はフィルター9では捕捉されずに

-6-

容器10に送られる。

フィルター8で白血球が選択的に捕捉される理由は白血球の粘着性によるものと、細孔による伊過の2種類によるもので、赤血球は粘着能が低い事と変形能が高いことから、このフィルター8には殆んど捕捉されない。また、白血球の粘着性と細孔による伊過の2種類によつて白血球を捕捉している為、一般のメンブレンフィルターによくみられる目詰まりを起こすことが非常に少なく、また、白血球の粘着性だけを利用するフィルターの場合にリンパ球が多量に流れ出してしまふことも殆んど無い。

次に容器11内の血液7が空になつた時点で血液の導入管12を洗淨液13に入れ、フィルター8内に残存する赤血球、血漿等を洗い流してやり、その後フィルター8内に捕捉された白血球を適当な方法で回収してやることにより、白血球が純度、収率良く採取される。ここで洗淨液13は、生理食塩水、リン酸緩衝生理食塩水等で良い。また、血液7の代わりに何らかの方法で単球、顆粒球を

-7-

孔質フィルターの厚み、すなわち、多孔質フィルターの血液の入口から出口までの道線距離を10mm以上とする。

#### 実施例1

平均孔径が50μmのポリエステル多孔体を内径20mm、長さ100mmの容器に入れて、白血球の捕捉・採取用のフィルターとして用いた。また実験装置としては第3図に示すものを用いた。このフィルターに健康人のヘパリン加血液50mlを5ml/minの流速で流し、次に生理食塩水を同じ流速で流して血液を洗淨し、合計150mlの伊液を得た。この伊液には白血球はもとの血液の7%しか含まれていなかったが赤血球は99.7%含まれていた。この後フィルターに血液を含む生理的溶液50mlを流速5ml/minの流速で流し、フィルターに振動を与えながら、フィルター内の白血球を回収した。回収した液を調べたところ、白血球はもとの血液の5.5%が回収されており、赤血球は0.2%、血小板は7%であつた。

#### 実施例2

-9-

特開昭55-136955(3)

除去した血液を用いれば、フィルター8に捕捉される血球はリンパ球のみであり、リンパ球が純度収率良く採取できることは言うまでも無い。

この様に本発明白血球の捕捉・回収用フィルターを使用することにより、簡単な操作で、短時間のうちに、純度、収率良く白血球を捕捉・採取することができる様になつた。

ここで、<sup>多孔質</sup>多孔質フィルターの平均孔径は5から20μmの範囲内であり、白血球の純度・収率の両面からみて、10~15μmが好ましい。平均孔径が5μm以下になると、フィルターに残存する赤血球が急激に増えて来るとともにフィルターが目詰まりを起こし易くなり、事実上、白血球の捕捉・採取を目的とするフィルターとして使い難くなつてしまい、また平均孔径が20μmを超えると、今度は粘着能が低いリンパ球がフィルターから流れ易くなつてしまい、白血球全体を捕捉・回収するのが難かしくなつてしまふ。

尚、多孔質フィルターの細孔孔径の不均一性に起因する捕捉したい血球の流れ過ぎを防ぐ為、多

-8-

平均孔径が10μmのポリエチレンウレタン多孔体を内径10mm、長さ25mmの容器に入れて白血球の捕捉・採取用フィルターとして用いた。このフィルターに健康人のヘパリン加血液からポリアミド繊維により、単球・顆粒球の殆んどを除いた血液(白血球中のリンパ球の比率は95%であつた)2mlを流速4mlで流し、その後15mlの生理食塩水を同じ流速で流し、フィルター内の赤血球を洗淨した。この後、フィルターに2mlの生理食塩水を急激に流し、フィルター内の白血球を回収した。回収した液を検査したところ、白血球中のリンパ球の比率は95%、すなわち、純度95%のリンパ球が単球、顆粒球の殆んどを除いた血液に対して60%の回収率で得られた。また、このときの流入赤血球はもとの血液に対して0.5%、流入血小板は0.8%であつた。

以上述べた様に、本発明白血球の捕捉・採取用フィルターを用いる事により、簡単な操作で、短時間のうちに、純度、収率ともに良く白血球を捕捉・採取できる様になつた。また、本発明白血球

-10-

BEST AVAILABLE COPY

捕捉・採取用フィルターは密閉回路を構成することが容易で無菌的操作も非常に簡便になった。

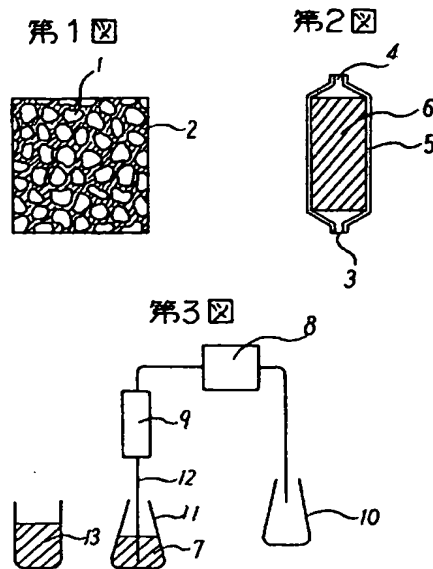
#### 各図面の簡単な説明

第1図は本発明における多孔質フィルターの断面の模式図であり第2図は本発明白血球の捕捉・採取用フィルターの一列を示す模式図であり、第3図は本発明白血球の捕捉・採取用フィルターを使用する際の装置の一列を示す模式図である。

- 1 … 細孔
- 2 … 多孔質構造物
- 3 … 入口
- 4 … 出口
- 5、10、11 … 容器
- 6 … 多孔質フィルター
- 7 … 血漿
- 8 … ポンプ
- 9 … 白血球の捕捉・採取用フィルター
- 12 … 血漿の導入管
- 13 … 沈降液

特許出願人 旭化成工業株式会社

-11-



手続補正書(自発)

昭和55年3月24日

特許庁長官 川原 鮎 雄 殿

1. 事件の表示 昭和54年特許願第 44270 号

2. 発明の名称

白血球の捕捉・採取用フィルター

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

大阪府大阪市北区堂島浜1丁目2番6号

(008) 旭化成工業株式会社

取締役社長 宮 崎 輝



4. 補正の対象

明細書の「発明の詳細な説明」の欄

5. 補正の内容

明細書第9頁第5行「50μm」を「100μm」と訂正する。



以上

BEST AVAILABLE COPY